

BRONŞ KANSERLİ HASTALARDA SERUM VE BRONŞ LAVAJINDA ANJİYOTENSİN KONVERTİNG ENZİM VE ALKALEN FOSFATAZ AKTİVİTESİ^x

Dr. Orhan ÇILDAĞ (x)
Dr. Mecit SÜERDEM (x)
Dr. Ebubekir BAKAN (xx)
Dr. Nuri BAKAN (xxx)

ÖZET

Bu çalışmada, 50 bronş kanserli ve 10 sağlıklı olgunun serum ve bronş lavajında anjiyotensin konverting enzim ve alkale fosfataz aktiviteleri araştırıldı. Hastalardaki serum anjiyotensin konverting enzim aktivitesi kontrollere göre düşük bulundu ($p<0.01$). Bronş lavajında ise enzim aktivitesi kontrol grubunun değerlerine göre önemli derecede yüksek idi ($p<0.01$). Serum alkale fosfataz seviyeleri her iki grup arasında önemlilik arz etmemesine rağmen ($p<0.05$), hastaların lavaj alkale fosfataz değeri kontrole göre belirgin olarak yüksek bulundu ($p<0.01$).

GİRİŞ

Anjiyotensin konverting enzim (ACE) asidik bir glikoprotein olup, esas fonksiyonu anjiyotensin I'i biyolojik olarak vazopressör olan anjiyotensin II'ye çevirmek ve depressör bir madde olan bradikinin inaktive etmektir (1,2). Enzim, vasküler endotel hücrelerin luminal yüzeyinde değişik konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Sentez ve salgılanma yeri tam olarak tesbit edilmemiş olmakla beraber, en önemli kaynağının akciğer ve böbrek olduğu sanılmaktadır (3,4,5).

Bronş kanserlerinin teşhisinde tam güvenilir biyokimyasal bir metodun olmayışı, bronş kanserli hastalarda değişik biyokimyasal çalışmaların yanı sıra, serum

x Bu araştırma Atatürk Üniversitesi Araştırma fonu tarafından 1987/20-0 nolu proje ile desteklenmiştir.

(x) Atatürk Üniv. Tıp Fak. Göğüs Hastalıkları Bilim Dalı Y. Doçenti.

(xx) Atatürk Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı Doçenti.

(xxx) Atatürk Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı Öğ. Görevlisi.

ACE aktivite tayinlerinin de araştırılmasına neden olmuştur. Bu yönde yapılan çalışmalarda, bronş kanserli hastaların serum ACE aktivite seviyeleri düşük bulunmuş ve bu düşüklüğün hastalığın prognozuyla paralel olduğu bildirilmiştir (6,7,8).

Bronş lavajında ACE konsantrasyonu ile ilgili sonuçlar tam açıklığa kavuşturulamamış ve halen tartışma konusudur (9,10). Diğer taraftan, bronş kanseri şüpheli hastaların bronş lavaj sıvılarında alkalen fosfataz (ALP) ve katepsin-D gibi lizozomal enzimler yüksek oranda tesbit edilmiş ve mevcut metodlarla teşhis konamayan böyle hastaların bronş lavajında lizozomal enzimlerdeki artışın kanserin ön göstergesi olabileceği belirtilmiştir(11).

Biz bu çalışmamızda,bronş karsinomu kesin tanısı konulmuş olan hastalarda bronş lavajı ACE ve ALP seviyelerini, mevcut literatürlerle karşılaştırarak, incelemeyi amaçladık.

MATERYAL ve METOD

Çalışmaya kesin tanıları gerçekleşmiş 50 bronş karsinomlu hasta ile 10 sağlıklı kontrol alındı. Hastaların 41 (%82)'i erkek, 9 (% 18)'u kadındı. En küçük hasta 44, en büyüğü 76 yaşında olup, ortalama yaş dağılımı 57.8'di. Kontrol olgularımızın hepsi erkekti ve ortalama yaş dağılımı 38.7 idi. Hastalarımızın 21 (%42)'i epidermoid karinom, 16 (%32)'sı küçük hücreli karsinom, 4(%8)'ü adenokarsinom, 1 (%2)'i bronkioloalveoler karsinom ve 1 (%2)'i indifferansiye büyük hücreli karsinomluydu. Geri kalan 7 (%14) hastada sistolojik (grade IV ve V) tanı konulmuş olmasına rağmen, tip tayini yapılamadı. Kontrol grubu olarak, klinik ve rutin laboratuvar muayeneleri ile tam sağlıklı oldukları belirlenen 10 gönüllü çalışmaya katıldı.

Her hastaya ve kontrollere lokal anestezi ile fleksibl fiberoptik bronkoskopi tekniğine uygun olarak yapıldı (12). Bronkoskopun ucu lezyonun bulunduğu yerin en yakın bronşuna yerleştirilerek, 10 cc % 0.9 NaCl verildi ve lavaj materyali elde edildi. Kontrollerde ise lavaj materyali sağ orta lob bronşundan alındı. Alınan materyalin kanamalı olmamasına özen gösterildi ve kanlı olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Materyalin bir kısmı daha sonra enzim tayinleri yapmak için buzdolabına kondu, geriye kalan ise sitolojik tetkike gönderildi. Ayrıca, histopatolojik tetkik için hastalardan uygun biopsi örnekleri alındı. Histopatolojik ve/veya sitolojik tanı konulamayan olgular çalışmadan çıkarıldı.

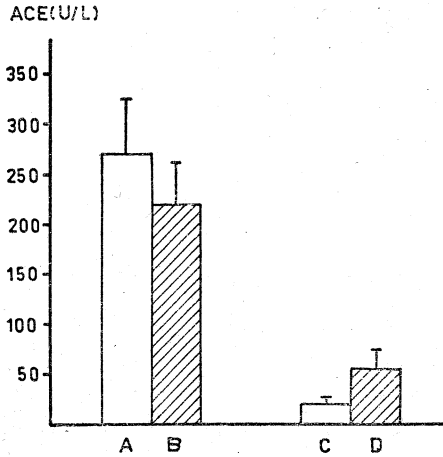
Serum ACE ve ALP tayinleri için hasta ve kontrollerden beşer mililitre venöz kan alındı. Daha sonra venöz kan ve bronş lavaj örnekleri soğutmalı santrifüjde -4C° de 20 dakika süreyle 1500x2g de santrifüj edildi. Alınan serumlar -20C° de en fazla bir ay kalmak üzere saklandı. Serum ve bronş lavajında ACE aktivite tayinleri Neels ve arkadaşlarının geliştirdiği hassas bir metodla (13), ALP tayinleri ise kolorimetrik (PNPP) metoduyla yapıldı (14). Sonuçlarımızın istatistiksel analizlerinde "Grup Karşılaştırması Metodu" kullanıldı (15).

BULGULAR

Bronş karsinomalı 50 hastadan elde edilen ortalama ACE seviyesi serumda 219.8 ± 42.1 U/L, bronş lavajında 55.5 ± 18.4 U/L olarak bulundu. 10 sağlıklı kontrolde ise, enzime ait ortalama değerler serumda 271.0 ± 58.1 U/L, bronş lavajında 19.4 ± 6.1 U/L idi. Her iki grupta serum ve lavaj enzim seviyeleri ile her iki grubun serum ve lavaja ait değerleri arasında istatistiksel analizler sonucunda anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.01$). Bu sonuçlarımız tablo 1'de ve sütunsal grafik halinde şekil 1'de gösterildi.

Tablo 1. Hastaların ve kontrollerin serumları ile bronş lavajlarına ait ACE seviyeleri.

HASTA	ACE (U/L)		p
	SERUM	BRONŞ LAVAJI	
HASTA (n=50)	219.8 ± 42.1	55.5 ± 18.4	< 0.01
KONTROL (n=10)	271.0 ± 58.1	19.4 ± 6.1	< 0.01
p	< 0.01	< 0.01	



Şekil 1. Serum ve lavaj ortalama ACE seviyeleri.

A: Kontrol serumu, B: Hasta serumu, C: Kontrol lavajı, D: Hasta lavajı.

Histopatolojik tip tayinine göre elde ettiğimiz serum ve lavaja ait ACE seviyeleri total sonuçlarımıza kıyasla belirgin farklılık göstermedi (Tablo 2).

Tablo 2. Histopatolojik tiplere göre serum ve lavaj ACE seviyeleri.

Kanserin histopatolojik tipi	ACE (U/L)			
	Sayı	%	Serum	Bronş lavaajı
Epidermoid karsinom	21	42	215.3±35.4	47.8±12.3
Küçük hücreli karsinom	16	32	224.1±49.3	53.2±14.8
Adenokarsinom	4	8	202.5±82.1	59.67±28.7
Bronkioloalveoler kar.	1	2	209.4	51.3
İndif. büyük hücreli kar.	1	2	199.8	57.1
Tip tayini yapılamıyanlar	7	14	220.6±41.8	53.7±18.1
TOPLAM	50	100	219.8±42.1	55.5±18.4

Olgularımızın ortalama ALP değerleri, serumda 61.5±24.7 U/L, lavajda 35.0±13.4 U/L idi. Kontrollarda ise, serumda 52.6±11.6 U/L , lavajda 17.8±5.1 U/L değerlerindiydi. Hastaların ve kontrolların ortalama serum ALP değerleri arasında anlamlılık olmamasına rağmen ($p<0.05$) lavaj enzim seviyeleri anlamlı olarak farklı bulundu ($p<0.01$) (Tablo 3, Şekil 2).

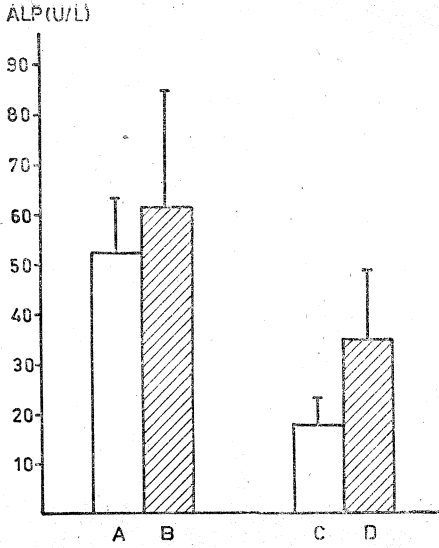
Tablo 3. Hastaların ve kontrolların serum ve bronş lavaajı ALP değerleri.

	ACE (U/L)	
	SERUM	BRONŞ LAVAJI
HASTA (n=50)	61.5±24.7	35.0±13.4
KONTROL (n=10)	52.6±11.6	17.8±5.1
p	>0.05	<0.01

TARTIŞMA

Serum, doku ve sıvılarda ACE aktivite tayinleriyle ilgili yapılan çalışmalarda, bu ölçümlerin bazı hastalıkların tanı ve takibinde yardımcı bir rol oynayabileceği belirtilmiştir (6,16,17,18). Sarkoidozlu hastalarda serum ACE seviyesinin hastalığın klinik seyrini göstermede iyi bir indeks olarak kullanılabileceği ve kortikosteroid tedavisinin etkinliğini takipte önemli bir gösterge olabileceği vurgulanmıştır (16,19). Erişkinin sıkıntılı solunum sendromu bulunan hastalarda ise serum ACE aktivitesi düşük bulunmuş ve bunun pulmoner vasküler endotel hücrelerin hasara uğramasından kaynaklandığı belirtilmiştir (17,20).

Bronş kanserli hastalarda serum ACE aktivitesi değişik çalışmalarda araştırılmış ve hemen hepsinde enzim seviyesi düşük bulunmuştur (6,7,8,16). Roulston



Şekil 2. Serum ve lavaj ortalama ALP seviyeleri.

A: Kontrol serumu, B: Hasta serumu; C: Kontrol lavajı, D: Hasta lavajı.

ve arkadaşları, serum ACE seviyesinin düşüklüğü ile hastalığın prognozu arasında doğru ilişki olduğunu bildirmişlerdir (6). Yine bu çalışmada, 9 hastaya yapılan radyoterapi ve kemoterapi sonucunda enzim seviyesinin arttığı gösterilmiştir. Heck ve arkadaşları da tedaviyle tam remisyona giren küçük hücreli karsinomalı hastalarda düşük enzim seviyelerinin normale doğru önemli derecede arttığını gözlemişlerdir (8). Ashutosh ve arkadaşları ise, serum ACE aktivitesindeki azalmanın tümörün büyüklüğü ile paralel olduğunu tesbit etmişlerdir (7). Bu çalışmalara uyumlu olarak, hastalarımızın serum ACE aktivite seviyeleri kontrole göre önemli derecede düşük bulundu ($p < 0.01$).

Akut pulmoner endotel hasarı oluşturulan hayvan modellerinde ve sarkoidozlu hastalarda bronş ve bronşiololalveoler lavaj ACE seviyelerinin, serum değerlerinden daha yüksek olduğunu bildiren çok sayıda çalışma mevcuttur (10, 11, 21, 22). Eksperimental çalışmalarda gözlenen artmış lavaj enzim seviyesi, oluşturulan pulmoner hasara ve lavajda proteolitik aktivitenin düşük olması ihtimaline bağlanmıştır (23, 24). Sarkoidozda ise lavaj enzim seviyesindeki yükselmeden enzimin sekresyonundaki ve alveolokapiler membranın geçirgenliğindeki artışın sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (1). Sonuç olarak lavaj sıvısına enzimin geçişi ile ilgili mekanizma tam olarak izah edilememiştir.

Sonuçlarımızı yukardaki teorilerle izah etmek zordur. Çünkü olgularımızın bronş lavaj ACE seviyeleri kontrollere oranla yüksek olmasına rağmen, serumla oranla anlamlı derecede düşük bulundu. Lavajda enzim seviyesinin yüksek olması

pulmoner damarlara malign yayılım ve pulmoner endotel hasar sonucu olabilir. Diğer taraftan bronş karsinomalarında doku harabiyeti uzun sürede ortaya çıktığından, eksperimental çalışmalarda oluşturulan akut ve şiddetli pulmoner hasara bağlı çok yüksek lavaj enzim seviyelerine zıt olarak, hastalarımızda seruma göre lavaj enzim değerlerinin daha düşük olması doğal kabul edilebilir. Sarkoidozda ise, akciğer parankiminde oluşan lezyonlar bronş kanserinde görülen doku harabiyetinden farklı olarak, yüksek ACE sentezine yol açan granümatöz bir patogeneze göstermektedir (25).

Roulston ve arkadaşları, bronş kanserli hastaların serum ACE ve ALP seviyeleri ile yaşam süresi arasında ters bir ilişki bulmuşlardır(6). Kühn ve arkadaşları ise, bronş kanseri şüpheli olguların lavaj aspiratlarında ALP'nin belirgin olarak yüksek olduğunu belirtmişlerdir(11). Her iki çalışmada da gerek serum gerekse lavaj ALP yüksekliğinin bronş kanseri lehine olabileceği vurgulanmıştır.

Bizim olgularımızın serum ALP seviyesi kontrole oranla yüksek olmasına rağmen istatistiki olarak anlam taşımıyordu. Ancak lavaj ALP seviyesi kontrole göre önemli derecede yüksek bulundu. Lavajda bu lizozomal enzimin artmış seviyesininin, muhtemelen tümörün invaziv büyümesine bağlı ortaya çıkan hücre harabiyeti sonucunda, enzimin lavaja geçişine bağlı olduğu düşüncesindeyiz.

Biz bronş karsinomalı hastaların bronş lavajında ACE ve ALP seviyelerini sağlıklı kontrollere göre yüksek bulduk. Ancak, bronş lavajında ACE ve lizozomal enzim ölçümlerinin bronş kanseri tanısındaki yerinin belirlenebilmesi için bu konuda daha fazla çalışmanın yapılması gereğine inanmaktayız.

SUMMARY

ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME AND ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY IN SERUM AND BRONCHIAL LAVAGE OF PATIENTS WITH BRONCHIAL CANCER

In this study, angiotensin converting enzyme and alkaline phosphatase levels of serum and bronchial lavage were determined in fifty patients with bronchial cancer and ten control subjects. Serum angiotensin converting enzyme activity in patients was less than that of control ($p < 0.01$). Angiotensin converting enzyme activity of bronchial lavage was statistically higher than the values of control ($p < 0.01$). Although there was no difference in serum alkaline phosphatase between two groups ($p > 0.05$), the patients had high levels of alkaline phosphatase in bronchial lavage ($p < 0.01$).

KAYNAKLAR

- 1) Fyhrst, F, Riska CG, Forslud T, Hortling L. Physiological and pharmlological aspects of angiotensin converting enzyme. Scand J Urology and Nephrology 79: 39-43, 1984.

- 2) Alpaçar, Z, Numanoğlu G, Bulutoğlu S. Renin anjiyotensin sistemi ve anjiyotensin konverting enzim. Haydarpaşa Numune Hastanesi Tıp Dergisi 26: 70-77, 1986.
- 3) Caldwell RPB, Seegal BC, Soffer RL. Angiotensin converting enzyme: Vascular endothelial localization. Science 191: 1050-1051, 1976.
- 4) Miyazaki M, Okunushi H, Nishimura AK, Toda N. Vascular angiotensin converting enzyme in man and other species. Clin Science 66: 39-45, 1984.
- 5) Tanı M, Mizuna K, Mashimoto S, Kunii N, Nilmura S, Yabc R, Watari H, Fukushima S. Demonstration and characterization of angiotensin converting enzyme in human pituitary tissue. Life Science 38: 2277-2284, 1986.
- 6) Roulston JE, Galloway PJ, Douglas G. Plasma angiotensin converting enzyme activity in patients with bronchial carcinoma. Br J Dis Chest 80: 229-234, 1986.
- 7) Ashutosh K, Keighley JFH. Diagnostic value of serum angiotensin converting enzyme activity in lung diseases. Thorax 31:552-557, 1976.
- 8) Heck, I, Niederle N. Angiotensin converting enzyme aktivitat wahrend zytostatischer therapie bei patienten mit primar inoperablem bronchial karzinom. Klin Wochen Schr 61: 923-927, 1983 (Exp Med).
- 9) Kelley J. Lavage angiotensin converting enzyme as a marker of lung injury. Am Rev Respir Dis 137: 531-534, 1988.
- 10) Dambrine MSM, Leguern GMS, Huchon GJ, et al. Elevation of the bronchoalveolar concentration of angiotensin I converting enzyme in sarcoidosis. Am Rev Respir Dis 126: 472-475, 1982.
- 11) Kühn, SH, Kock MA, Gevers W. The diagnostic value of lysosomal enzyme patterns in bronchial aspirates of patients with suspected bronchial carcinoma. Chest 74: 150-156, 1978.
- 12) Çelikoğlu S, Aykan TB. Diffüz akciğer lezyonlarının tanısında fleksibl fiberoptik bronkoskop ile yapılan transbronşik parankim biopsisinin değeri. Cerrahpaşa Tıp Fak Dergisi 11.: 362-368, 1980.
- 13) Neels NM, Van Sande ME, Scharpe S. Sensitive colorimetric assay for angiotensin converting enzyme in serum. Clin Chem 29: 1389-1403, 1983.
- 14) Bowers GN, McComb RB. A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of alkaline phosphatase. Clin Chem 12: 70-89, 1966.
- 15) Sümbüloğlu K. Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik, Matis Yayınları Ankara 1978.

- 16) Lieberman J, Hosal A, Schlessner LA, Sastre-Foker A. Serum angiotensin converting enzyme for diagnosis and therapeutic evaluation of sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 120:329-335, 1979.
- 17) Fourrier F, Chopin C, Wallaert B, et al. Angiotensin converting enzyme in human adult respiratory distress syndrome. *Chest* 4: 493-397, 1983.
- 18) Robert CS, Bart C, Rishard S, et al. Angiotensin converting enzyme activity: potential marker of tissue hypothyroidism in critical illness. *Arch Inter Med* 145: 1829-1832, 1985.
- 19) Robert BB, Yongyund P, Ronald DR, Laxmi S. Effects of sarcoid and steroid on angiotensin converting enzyme. *Am Rev Respir Dis* 128: 631-633, 1983.
- 20) Carlos WM, Bedrossian MD, Jannie W, et al. Decreased angiotensin converting enzyme in the adult respiratory distress syndrome. *Am J Clin Pathol* 70: 244-247, 1978.
- 21) Shasby M, Shasby SS, Bowman M, et al. Angiotensin converting enzyme concentrations in the lung lavage of normal rabbits treated with nitrogen mustard exposed to hyperoxia. *Am Rev Respir Dis* 124: 202-203, 1981.
- 22) Krieger B, Schwartz, J, Loomis W, Marsh J, Spragg R. Nonspecificity of elevated angiotensin converting enzyme activity in bronchoalveolar lavage fluid from high permeability lung edema states. *Am Rev Respir Dis* 129: 499-500, 1984.
- 23) Newman RA, Kimleirly PJ, Stewart JA, Kelley J. Assessment of Bleomycin lung toxicity using angiotensin converting enzyme in pulmonary lavage. *Cancer Res* 40: 3621-3636, 1980.
- 24) Hollinger MA, Giri SN, Patwell S, et al. Effect of acute lung injury on angiotensin converting enzyme in serum, lung lavage and effusate. *Am Rev Respir Dis* 121: 373-376, 1980.
- 25) Einosuke, V, Tadao K, Teruo T, Tatsuo K. Serum angiotensin converting enzyme activity as indicator of prognosis in sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 121: 667- 671, 1980.